

Importanza della misura delle troponine cardiache nella fisiopatologia e clinica delle malattie cardiovascolari. La documentazione del loro progressivo impatto attraverso la rivisitazione delle linee guida e documenti di consenso nazionali ed internazionali

Silvia Masotti¹, Veronica Musetti¹, Concetta Prontera¹, Simona Storti¹, Cristina Guiotto², Marco Migliardi², Rosalia Aloe³, Sara Rizzardi⁴, Martina Di Pietro³, Ruggero Dittadi⁵, Cinzia Carrozza⁶, Mario Correale⁷, Antonio De Santis⁷, Aldo Clerico¹ (Coordinatore), Gruppo di Studio ELAS Biomarcatori Cardiaca

¹Laboratorio Clinico, Fondazione CNR-Regione Toscana "G. Monasterio" e Scuola Superiore Sant'Anna, Pisa

²SC Laboratorio Analisi, AO Ordine Mauriziano, Torino

³SSD Biochimica ad Elevata Automazione, Dipartimento Diagnostico Azienda Ospedaliero-Universitaria, Parma

⁴UO Laboratorio analisi chimico cliniche e microbiologiche. Azienda Socio-Sanitaria Territoriale, Cremona

⁵Ospedale dell'Angelo, ULSS 12 Veneziana, Mestre

⁶Laboratorio Analisi 1, Fondazione Policlinico Universitario "A. Gemelli", Roma

⁷Unità di Patologia Clinica, IRCCS De Bellis, Castellana Grotte, e Laboratorio di Analisi Cliniche e Microbiologiche PO San Paolo, ASL Bari, Bari

RIASSUNTO Tutte le linee guida internazionali, pubblicate dopo l'anno 2000, raccomandano di considerare la troponina cardiaca I (cTnI) e T (cTnT) come i marcatori di prima scelta per la diagnosi differenziale della Sindrome Coronarica Acuta (SCA). Inoltre, le stesse linee guida raccomandano di utilizzare il 99° percentile della popolazione di riferimento come livello decisionale e che questo parametro deve essere misurato con un errore (espresso come CV) $\leq 10\%$. A causa delle basse concentrazioni di cTnI e cTnT circolanti nei soggetti adulti in apparente buona salute, la messa a punto di metodi immunometrici in grado di soddisfare le specifiche di qualità raccomandate dalle linee guida è un compito assai difficile. Per questa ragione, solamente dopo l'anno 2006, alcune aziende sono state in grado di mettere a disposizione dei laboratori clinici la prima generazione di metodi a più elevata sensibilità che cercavano di soddisfare almeno in parte le specifiche di qualità richieste dalle linee guida. Solo più recentemente sono stati introdotti nella pratica di laboratorio metodi immunometrici per la cTnI che sono in grado di soddisfare tutte le specifiche di qualità richieste dalle più recenti linee guida internazionali, soprattutto quella pubblicata nel 2018 dalla Task Force on Clinical Applications of Cardiac Bio-Markers of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Solo i metodi che soddisfano tutte le condizioni richieste dalle più recenti linee guida dovrebbero essere definiti metodi ad alta-sensibilità (high-sensitivity). I metodi ad alta-sensibilità dovrebbero essere preferiti nella pratica clinica per la diagnosi precoce delle SCA, come anche per la stratificazione del rischio, sia nei pazienti con malattie cardiache, che nella popolazione generale. Quindi sia gli esperti di medicina di laboratorio che i clinici dovrebbero conoscere le caratteristiche e le prestazioni analitiche (soprattutto a basse concentrazioni), come anche i limiti di riferimento (99° percentile) di questi metodi immunometrici. Scopo di questa rassegna è quello di discutere alcuni aspetti critici collegati alla definizione, prestazioni analitiche e alla rilevanza fisiopatologica dei metodi ad alta-sensibilità (high-sensitivity) per la misura delle troponine cardiache.

Parole chiave: Troponine cardiache; Infarto del miocardio; Sindrome coronarica acuta; Danno miocardico; Sensibilità analitica; Confronto di metodi; Metodi immunometrici

ABSTRACT **Clinical impact of cardiac troponins in cardiovascular disease. A review of international guidelines and expert consensus documents.** All international guidelines recommend that cardiac troponin I (cTnI) and T (cTnT) should be considered biomarkers of first choice for the differential diagnosis of Acute Coronary Syndrome (ACS). Moreover, these guidelines recommend that 99th upper reference limit (URL) for cardiac troponins should be measured with an imprecision $\leq 10\%$ CV. Indeed, the measurement of the troponin 99th URL is a very hard analytical challenge due to low biomarker concentrations in healthy adult subjects, especially women. For this reason, only after the year 2006, some manufacturers set-up the new generation of cTnI and cTnT immunoassays with improved analytical sensitivity in order to satisfy the quality specifications required by the international guidelines. The most recently guidelines, published after the year 2012, recommend only the cTnI and cTnT immunoassay methods, able to completely satisfy these quality specifications, should be defined as "high-sensitivity" methods. The high-sensitivity methods should be preferred for the early diagnosis of ACS syndrome and also for risk stratification of cardiovascular disease both in general population and cardiac patients. Therefore, the knowledge of analytical performances of these immunoassay methods, especially at very low normal concentration range, is a fundamental issue for both laboratory professionals and clinicians. The aim of this document is to discuss

some critical aspects related to definition, analytical performance, pathophysiological interpretations, and clinical relevance of high-sensitivity cardiac troponin assays.

Key-words: *Cardiac troponins; Myocardial infarction; Acute coronary syndrome; Myocardial injury; Analytical sensitivity; Method comparison; Immunometric assay*

INTRODUZIONE

Essendo le malattie cardiovascolari la prima causa di morbilità e mortalità nei paesi industrializzati, la valutazione dei fattori di rischio cardiovascolari, come anche una precoce diagnosi di queste malattie devono essere considerati obiettivi primari dell'organizzazione sanitaria, anche del nostro paese. Per questa ragione, fin dalla seconda metà del secolo scorso si è riscontrato un crescente interesse per lo sviluppo di nuovi biomarcatori (*biomarkers*) per la diagnosi e la prognosi delle malattie cardiovascolari [1-9].

Fino agli anni '70, il laboratorio metteva a disposizione del cardiologo solo pochissimi e, inoltre, assai poco sensibili e specifici test diagnostici, che erano considerati utili per l'accertamento della necrosi miocardica. I primi marcatori di danno tessutale utilizzati nell'infarto miocardico acuto (IMA) sono stati gli enzimi del gruppo delle amino-transferasi (come l'aspartato-aminotransferasi, AST, anche conosciuta in passato come glutammico-ossalacetico transaminasi, GOT), che sono stati poi gradualmente sostituiti dall'enzima creatina chinasi (CK) a causa della sua migliore sensibilità e specificità [1-9]. Con lo sviluppo di procedure cromatografiche ed elettroforetiche standardizzate e relativamente veloci, quindi utilizzabili per analisi di routine, sono stati messi a punto dei metodi per la misura degli isoenzimi della CK e della lattico deidrogenasi (LDH), che hanno portato soprattutto un incremento della specificità.

Tra gli anni '70 e '90, sono stati sviluppati i dosaggi immunometrici per l'isoenzima MB della CK (CK-MB), della miosina e della mioglobina [2-9]. Questi metodi immunometrici hanno consentito una diagnosi più rapida dell'IMA, sia perché potevano essere in grado di rilevare il danno cardiaco già entro 60 minuti dalla comparsa del dolore (come nel caso della mioglobina), ma anche perché il tempo necessario per fornire la risposta al clinico si era notevolmente ridotto rispetto ai metodi cromatografici, utilizzati precedentemente, e si potevano inoltre misurare più campioni nello stesso tempo. Tuttavia è stata la messa a punto del dosaggio delle troponine cardiache specifiche I (cTnI) e T (cTnT) che ha radicalmente cambiato non solo gli algoritmi diagnostici ed il follow-up dei pazienti con sospetto di sindrome coronarica acuta (SCA), ma che ha anche contribuito a sviluppare nuove ipotesi fisiopatologiche sullo sviluppo delle cardiomiopatie e la loro progressione verso lo scompenso cardiaco cronico [9-11].

Lo scopo di questa rassegna è quello di ripercorrere per mezzo di una rapida carrellata le più importanti tappe che hanno consentito questo spettacolare miglioramento nella diagnosi, prognosi e trattamento di cui hanno trovato giovamento non solo i pazienti con sindrome coronarica

acuta (SCA), ma anche quelli sofferenti di tutte le malattie cardiovascolari. Come riferimento lungo questo percorso, prenderemo in considerazione i più importanti documenti di consenso e linee guida sia nazionali che internazionali, che si sono susseguiti in questi ultimi 40 anni. Considerate le differenze tra le caratteristiche specifiche del Servizio Sanitario Nazionale Italiano, si è cercato di dare un particolare risalto al contributo degli studi effettuati in Italia, rispetto a quelli di altri paesi europei e nord-americani.

DAGLI ENZIMI CARDIACI ALLA MISURA DELLE TROPONINE CARDIACHE SPECIFICHE (ANNI 1970 – 2000)

Il documento pubblicato nel 1979 da parte del *Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization Task Force on Standardization of Clinical Nomenclature* stabiliva che la diagnosi clinica di IMA si basa su di una triade di fattori: la rilevazione clinica di una storia clinica in cui sia presente una sintomatologia tipica con dolore anginoso, la documentazione di un quadro elettrocardiografico (ECG) specifico e l'alterazione di alcuni esami di laboratorio [1]. Questo documento stabiliva, inoltre, che la presenza di almeno due di questi tre fattori era necessaria e sufficiente per confermare la diagnosi, per cui la storia positiva per dolore toracico tipico insieme al riscontro di un tracciato elettrocardiografico suggestivo per ischemia miocardica erano sufficienti per una diagnosi di IMA [1]. Questi pazienti con storia e/o sintomatologia clinica tipica e con ECG diagnostico per IMA sono classificati ancora oggi come pazienti con IMA-STEMI, perché presentano generalmente un quadro ECG caratterizzato da un sopra-slivellamento del tratto ST (*ST-segment Elevation Myocardial Infarction*) (Fig. 1).

Comunque, è ben noto che molti pazienti con IMA, soprattutto se anziani, con diabete mellito e in genere di sesso femminile, si presentano però con sintomi diversi dal dolore toracico (presentazione atipica), quali: dispnea isolata, comparsa di palpitazioni, astenia improvvisa, nausea/vomito, diaforesi, stato confusionale acuto e sincope [9-12]. Inoltre, attualmente, si stima che l'ECG non sia alterato in modo specifico in circa il 50% dei casi di IMA [9-12]. Infine, gli enzimi che allora erano misurati (come CPK, LDH ed alcune aminotransferasi) non erano assolutamente cardio-specifici, perché un aumento dei loro valori circolanti può essere causato non solo da alterazioni cardiache non ischemiche, ma anche da condizioni patologiche extra-cardiache (malattie epatiche, muscolari, polmonari, ecc.) [2-5].

Dopo gli anni '80, l'utilizzo della ecocardiografia, come anche di test di laboratorio più rapidi e sensibili come i

metodi immunometrici della CK-MB massa e mioglobina ha consentito una migliore definizione diagnostica, essenziale per sfruttare le opportunità offerte, inizialmente, dal trattamento fibrinolitico, ed in seguito, dal diffondersi della rivascolarizzazione coronarica percutanea [6,8,9].

Nelle ultime due decadi del secolo scorso la disponibilità del dosaggio delle troponine cardiache specifiche ha drasticamente cambiato l'approccio diagnostico della SCA specialmente nei pazienti con quadro ECG definito senza innalzamento del tratto ST (N-STEMI, *Non-ST-segment Elevation Myocardial Infarction*) (Fig. 1). Rispetto agli altri metodi fino ad allora utilizzati nella diagnosi differenziale di SCA, i metodi immunometrici per la misura delle cTnI e cTnT presentano il fondamentale vantaggio della cardio-specificità. Dopo la nascita, le cellule miocardiche esprimono negli individui sani solo i geni per le troponine cardiache I e T che risultano differenti rispetto alle iso-forme espresse nel muscolo scheletrico, in quanto presentano alcuni amino-acidi differenti nella prima parte della catena peptidica. Utilizzando anticorpi specifici contro questi epitopi presenti solo nella catena peptidica delle iso-forme cardiache si possono preparare metodi immunometrici per le cTnI e cTnT che non sono interferiti dalle iso-forme delle proteine espresse nel muscolo scheletrico.

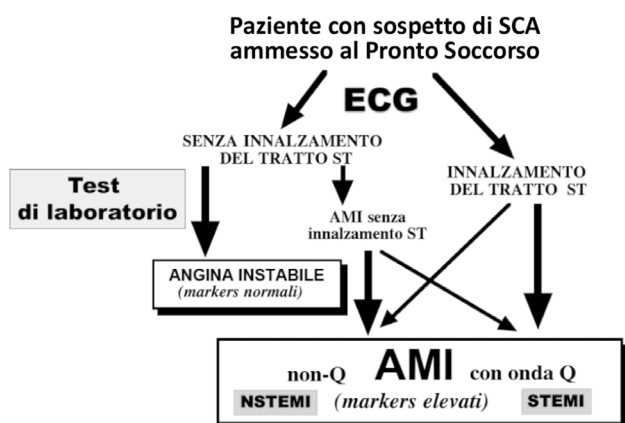


Figura 1
Schema della diagnosi clinica di infarto miocardico acuto (IMA) in un paziente ammesso al Pronto Soccorso con sospetto di Sindrome Coronarica Acuta (SCA) secondo le linee guida internazionali pubblicate negli anni 1979 [1] e 2000 [13].

RE-DEFINIZIONE DELL'INFARTO DEL MIOCARDIO (ANNI 2000 – 2006)

Nell'anno 2000, il documento denominato *Myocardial Infarction Redefined* ha codificato per la prima volta il ruolo preminente del dosaggio delle cTnI e cTnT nella diagnosi differenziale delle SCA, affermando che la diagnosi di IMA si fonda sul rilevamento di un aumento di questi biomarcatori nei pazienti con fondato sospetto clinico di ischemia miocardica [13]. A partire da questo fondamentale documento, tutte le linee guida nazionali ed internazionali hanno poi raccomandato che le cTnI o cTnT debbano essere sempre misurate in tutti i pazienti con sospetto di IMA-NSTEMI, in quanto sono considerati i biomarcatori di scelta per la diagnosi differenziale delle SCA. Da un punto di vista clinico, i pazienti con angina instabile possono essere distinti da quelli con infarto del miocardio senza

PAZIENTE AMMESSO AL PRONTO SOCCORSO CON SOSPETTO DI DANNO CARDIACO

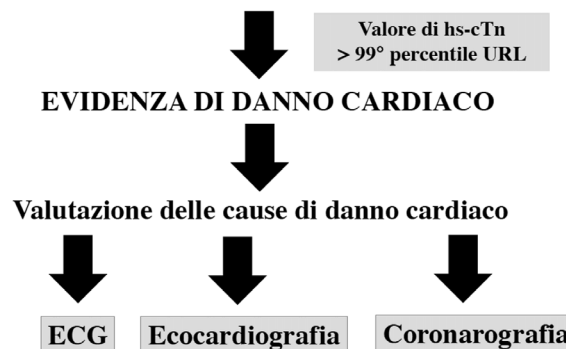


Figura 2

Algoritmo clinico-diagnostico per la diagnosi differenziale in un paziente ammesso al Pronto Soccorso con sospetto di danno cardiaco secondo il documento *Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction* pubblicato nel 2018 [30]. È importante sottolineare che secondo queste recentissime linee guida è preminente la dimostrazione della presenza di un danno cardiaco (mediante la misura con metodi ad alta-sensibilità delle troponine) rispetto alla dimostrazione della presenza di una ischemia cardiaca per mezzo della storia clinica e/o degli esami strumentali (vedi Fig. 1).

sopra-slivellamento del segmento ST (SCA-NSTEMI) soltanto per mezzo della determinazione delle troponine cardiache specifiche (Fig. 1).

Questo importante documento di consenso redatto consensualmente tra cardiologi e biochimici clinici [13], stabilisce inoltre che come livello decisionale per la diagnosi di IMA deve essere considerato il 99° percentile della distribuzione dei valori di cTnI e cTnT, determinato in una popolazione normale di riferimento. Inoltre, fissa in un coefficiente di variazione (CV) uguale od inferiore al 10%, la precisione ottimale dei metodi di cTnI e cTnT da utilizzare. È importante sottolineare come tali specifiche di qualità non erano soddisfatte da nessun metodo immunometrico allora presente in commercio [14]. Inoltre, a causa della mancanza di una standardizzazione, i risultati dei metodi per la cTnI, forniti dai differenti metodi commerciali, potevano variare fino a oltre 20 volte fra loro [14]. A questo proposito, alcuni importanti aspetti di questo fondamentale documento [13] devono essere presi in considerazione sia da un punto analitico che fisiopatologico e clinico.

Dal punto di vista analitico è importante sottolineare che, non solo al tempo della pubblicazione del documento *Myocardial Infarction Redefined* [13], ma anche fino a circa 5 anni dopo, non sono stati disponibili in commercio metodi che potevano misurare con confidenza analitica il 99° percentile della distribuzione di cTnI e cTnT nella popolazione di riferimento, in quanto nella maggior parte dei soggetti adulti sani (soprattutto se di sesso femminile) non erano in grado di misurare valori del biomarcatore superiori del limite di determinazione (*Limit of Detection, LoD*).

Dal punto di vista clinico, non era chiaro al tempo della pubblicazione del documento *Myocardial Infarction Redefined* quale fosse la ragione della presenza in circolo di quantità misurabili di cTnI e cTnT. Era infatti diffusa a quel tempo, soprattutto tra i clinici, la convinzione che valori misurabili di troponina in circolo dovessero essere sempre dovuti a una lisi totale di tutte le strutture citoplasmatiche

del tessuto miocardico, in quanto si pensava che le cTnI e cTnT fossero presente solo nel sarcomero del miocardiocita. La scarsa sensibilità analitica dei metodi per la misura cTnI e cTnT di cui si disponeva nei primi anni del nuovo secolo, che permettevano la misura di quantità del biomarcatore con un'accettabile precisione ($\geq 20\%$ CV) solo per valori al di sopra del livello decisionale, alimentava la falsa convinzione da parte di alcuni clinici che la misura delle troponine fosse un test di laboratorio che rispondesse al quesito diagnostico presenza/assenza di IMA in maniera dicotomica. Elevati valori sopra il cut-off erano considerati quindi come espressione della presenza di una necrosi miocardica. È da rilevare che i primi metodi immunometrici di misura delle cTnI e cTnT non avevano una sensibilità diagnostica molto superiore a quelli utilizzati per la CK-MB massa e della mioglobina.

LA DEFINIZIONE UNIVERSALE DI INFARTO DEL MIOCARDIO (2007-2018)

Dopo la pubblicazione del documento *Myocardial Infarction Redefined*, le ditte produttrici hanno profuso ingenti sforzi per lo sviluppo di nuove tecnologie per soddisfare le specifiche di qualità raccomandate dalle linee guida internazionali per i metodi delle cTnI e cTnT da utilizzare nella diagnosi di IMA. Tuttavia, ancora nel 2004, come dimostrato da un documento da parte del gruppo di lavoro della IFCC (*International Federation of Clinical Chemistry*) [14], i laboratori clinici non avevano ancora a disposizione un metodo con una sensibilità analitica tale da permettere di calcolare con una confidenza statistica accettabile il valore del 99° percentile della distribuzione dei valori di concentrazioni della cTnI e della cTnT nei soggetti adulti sani, poiché i metodi fino ad allora sviluppati non erano ancora in grado di misurare i livelli circolanti di queste proteine nella maggioranza dei soggetti adulti apparentemente sani. Comunque, anche se fossero stati in grado di farlo, non avrebbero potuto misurare tale valore con un CV $\leq 10\%$, come richiesto dalle linee guida.

Solamente dopo l'anno 2005 sono stati resi disponibili per i laboratori clinici i primi metodi immunometrici per cTnI e cTnT che potevano soddisfare, almeno in parte, le specifiche di qualità richieste dalle linee guida [9-12,15-17]. Infatti, alcuni di questi metodi per la misura della cTnI [18,19] e della cTnT [20,21] mostravano una sensibilità analitica (espressa come LoD) di circa 3-6 ng/L ed un rapporto molto vicino all'unità fra la sensibilità funzionale (cioè la concentrazione di troponina misurata con un errore $\leq 10\%$ CV, detta anche limite di quantificazione al 10% CV, LoQ) e il 99° percentile della popolazione di riferimento, come richiesto dalle linee guida internazionali [13,14].

Come era stato teoricamente previsto [15,16], una grande mole di studi pubblicati dopo l'anno 2000 ha dimostrato che la più elevata sensibilità analitica dei metodi di nuova generazione delle troponine cardiache si accompagnava anche ad un'augmentata sensibilità diagnostica e prognostica. Infatti, la ri-analisi con metodi più sensibili di serie di campioni provenienti da pazienti con danno miocardico certo, ma precedentemente risultati negativi con un metodo della generazione precedente, ha rilevato una positività (valori al di sopra del 99° percentile della popolazione di riferimento, URL) dal 14% fino a più del 60% di questi casi riesaminati, come discusso in

dettaglio in numerose rassegne e documenti di consenso [10-12,22,23]. Questi studi hanno anche dimostrato che i metodi a più elevata sensibilità analitica riescono più precocemente a classificare correttamente tutti i soggetti con IMA (veri positivi), ma d'altra parte misurano valori elevati (cioè al di sopra il 99° percentile URL) di cTnI e cTnT in un numero maggiore di pazienti con danno cardiaco di origine non ischemica (quindi da considerare come valori falsi positivi rispetto al quesito diagnostico di IMA) rispetto ai metodi della generazione precedente con minore prestazione analitica [10-12,22,23]. Di fatto, come era lecito attendersi dalla teoria, una migliore sensibilità diagnostica era stata ottenuta a scapito di una diminuzione di specificità.

Negli stessi anni, si è anche assistito ad un notevole miglioramento del follow-up e management dei pazienti con malattie cardiovascolari, dovuto anche ai progressi tecnologici in altre discipline con lo sviluppo di tecniche di diagnostica per immagini, sia di tipo non invasivo che invasivo, specificatamente dedicate all'apparato cardiovascolare (ecocardiografia, tecniche radiologiche, come TAC, tecniche di medicina nucleare, come SPECT e PET, e tecniche NMR con mezzo di contrasto al gadolinio) [24-26]. Questi rilevanti miglioramenti tecnologici, sia per quanto riguarda i test di laboratorio [10-12,22,23] che di *imaging* cardiaco [24-26], hanno prodotto una grande messe di dati originali ed in parte inaspettati, considerando le teorie fisiopatologiche allora comunemente accettate per la cardiomiopatia ischemica. Questi risultati senza dubbio richiedevano un aggiornamento delle conoscenze alla luce delle nuove evidenze acquisite in ambito cardiologico e più in particolare della fisiopatologia e clinica della SCA.

Considerando queste nuove acquisizioni, nel 2007, viene pubblicato l'importante documento intitolato *Universal Definition of Myocardial Infarction da parte della Task Force for the Definition of Myocardial Infarction* (gruppo di lavoro delle società scientifiche internazionali: ESC, ACCF, AHA e WHF) [27]. Lo scopo principale di questo documento è quello di fornire alcuni criteri derivati sia dalla clinica che dai risultati delle indagini di laboratorio e dall'*imaging* cardiaco, da utilizzare per una più accurata definizione clinica ed anatomo-patologica dei vari tipi di IMA. L'obiettivo dichiarato di questo documento è pertanto quello di consentire non solo un significativo miglioramento nella accuratezza diagnostica e nel trattamento dei pazienti con SCA, ma anche una più efficace e precisa archiviazione dei dati per studi epidemiologici e di statistica sanitaria.

Il documento stabilisce che il termine infarto del miocardio dovrebbe essere utilizzato quando vi è una evidenza di una necrosi miocardica in presenza di una condizione clinica consistente con una ischemia miocardica. Nel caso particolare di un paziente che si presenta al Pronto Soccorso con sospetto di SCA, la diagnosi di IMA dovrebbe essere eseguita in base al rilievo di una cinetica delle cTnI o cTnT caratterizzata da una fase di aumento e/o di diminuzione associata a sintomi di ischemia, oppure a un quadro elettrocardiografico o ecocardiografico suggestivo per la presenza di una zona di necrosi miocardica. Il documento definisce anche i criteri di diagnosi di infarto del miocardio in caso di morte per arresto cardiaco, oppure in caso di intervento di coronarografia, di angioplastica o di cardiocirurgia per un *by-pass* aorto-coronarico. Il documento, infine, stabilisce anche i criteri da

utilizzare al tavolo autoptico per definire un infarto del miocardio in un soggetto con morte improvvisa dovuta ad un arresto cardiaco in cui non sia disponibile un dosaggio di troponina.

È importante sottolineare che la definizione di IMA proposta dal documento *Universal Definition of Myocardial Infarction* si differenzia da quella raccomandata dalle precedenti linee guida, pubblicate rispettivamente negli anni 1979 [1] e 2000 [13]. Mentre nelle precedenti linee guida [1] (Fig. 1) i primi e fondamentali parametri clinici-diagnostici da considerare per la diagnosi di SCA erano la storia clinica e l'esito dell'esame ECG, mentre il test di laboratorio doveva essere eseguito solo se l'ECG non era da solo decisivo per la diagnosi, per la prima volta questo documento suggerisce come prioritaria e fondamentale anche la dimostrazione di un danno cardiaco ottenuta per mezzo della misura delle troponine cTnI e cTnT. Di conseguenza, la misura del biomarcatore dovrebbe essere sempre eseguita contestualmente alla visita clinica e all'esame ECG, cioè subito all'ammissione al Pronto Soccorso.

È da notare che questo "ribaltamento" nella impostazione della sequenza diagnostica, che mette in primo piano la misura delle cTnI e cTnT rispetto al quadro ECG, verrà progressivamente ancora più accentuato nei tre successivi documenti di revisione della *Universal Definition of Myocardial Infarction*, rispettivamente pubblicati negli anni 2011 [28], 2012 [29] e 2018 [30]. In particolare, il documento *Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction* del 2018 [30] cerca di definire rigorosamente il danno cardiaco (*myocardial injury*), che è una condizione clinica che deve essere tenuta ben separata dall'infarto del miocardio. La conferma della presenza di un danno cardiaco è ottenuta mediante la rilevazione di almeno un valore di cTnI e cTnT (meglio se misurate con metodi ad alta sensibilità) sopra il 99° percentile URL. Il danno è da considerare acuto se si dimostra un aumento e/o una diminuzione significativa dei valori del biomarcatore che si devono misurare in almeno due campioni successivi del paziente [30]. Il termine IMA deve essere utilizzato quando si è dimostrato un danno cardiaco acuto (come detto precedentemente) in un paziente con evidenze cliniche, elettrocardiografiche, ecocardiografiche e/o coronarografiche di ischemia cardiaca [30] (Fig. 2).

Il documento *Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction* [30] ribadisce che per definire una lesione cardiaca come IMA, si deve sempre accertare la natura ischemica, non essendo quindi sufficiente la sola rilevazione di valori del biomarcatore al di sopra del 99° percentile della popolazione di riferimento. Infatti, ormai moltissimi studi hanno dimostrato che la cTnI e la cTnT possono essere elevate nei pazienti con danno cardiaco, indipendentemente sia dalla etiologia dello stesso (inclusi agenti infettivi, assunzione di farmaci cardiotossici e traumi), che dall'origine primitiva dell'insulto patogeno, essendo quindi comprese tutte le malattie sistemiche e di origine primitivamente extra-vascolare che possono secondariamente interessare il cuore (in particolare, malattie autoimmunitarie, polmonari acute e croniche e l'insufficienza renale) (Tab. 1) [10-12,15,16,30].

A questo riguardo, è importante sottolineare che la diagnosi di IMA, quando l'ECG non è da solo diagnostico, non può essere effettuata (od esclusa) mediante un solo

valore di cTnI o cTnT, ma necessita di essere confermata da almeno due misurazioni effettuate in successione, in genere in un intervallo di 3 ore, se si utilizza un metodo ad alta sensibilità, come raccomandato dalle più recenti linee guida [30,31]. La rilevazione della tipica cinetica dei livelli circolanti di cTnI e cTnT risulta quindi del tutto indispensabile, sia per stabilire la diagnosi di IMA, sia per distinguere la lesione di tipo ischemico acuto da altre condizioni di danno cardiaco non ischemico [30,31]. Infatti, nella maggior parte delle altre condizioni cliniche riportate in tabella 1, i livelli di cTnI e cTnT presentano generalmente valori costantemente elevati al di sopra del limite decisionale senza una tipica cinetica a scendere e/o a salire.

Da un punto di vista clinico, è importante sottolineare, ancora una volta, che il dosaggio delle troponine cardiache è assolutamente cardio-specifico, ma non malattia-specifico. Esse forniscono delle informazioni, spesso essenziali, che però necessitano di essere interpretate alla luce del quadro clinico del paziente. In particolare, i nuovi metodi di dosaggio ad alta sensibilità richiedono da parte degli esperti di medicina di laboratorio e dei clinici un'attenta riflessione riguardo al quesito diagnostico per cui il test è stato richiesto. Livelli elevati di cTnI e cTnT dimostrano che si è prodotto un danno strutturale al miocardio, ma non possono fornirci indicazioni sul meccanismo fisiopatologico responsabile della lesione [30].

I METODI AD ALTA SENSIBILITÀ PER LA DETERMINAZIONE DELLE CTNI E CTNT: SPECIFICHE DI QUALITÀ E RILEVANZA CLINICA

Già nel 2009, Apple [17] suggeriva di utilizzare le differenti capacità dei metodi delle cTnI e cTnT di misurare valori significativi del biomarcatore nella popolazione di riferimento per classificare questi test diagnostici in quattro differenti livelli. Il primo livello comprendeva i metodi in grado di misurare soltanto valori significativi di cTnI o cTnT in meno del 50 % dei soggetti, mentre nel quarto ed ultimo livello erano inseriti i metodi in grado di misurare livelli significativi in quasi tutta la popolazione di riferimento ($\geq 95\%$). Documenti successivi, pubblicati negli anni 2012-2018, hanno cercato di precisare meglio le specifiche di qualità necessarie per definire un metodo per le cTnI o cTnT ad alta-sensibilità (*high-sensitivity*) [30-36].

In accordo anche con il recente documento delle società italiane di medicina di laboratorio SIBIOC ed ELAS [37], è necessario prendere in considerazione due fondamentali criteri per definire un nuovo metodo per la misura delle cTnI o cTnT ad alta sensibilità ("*high-sensitivity*") secondo le linee guida internazionali [34-36]. Il primo criterio, che è da considerare come una *conditio sine qua non*, stabilisce che si devono definire test di laboratorio "*high-sensitivity*" per la misura delle cTnI e cTnT esclusivamente i sistemi immunometrici che sono in grado di misurare il 99° percentile con un CV uguale o inferiore al 10%. Il secondo criterio stabilisce che i metodi "*high-sensitivity*" devono essere anche in grado di misurare concentrazioni di cTnI e cTnT superiori al limite di determinazione del metodo (*limit of detection*, LoD) nella maggioranza dei soggetti adulti normali [34-36]. Ancora più recentemente, il documento della *Academy of the American*

Tabella 1

Condizioni fisiopatologiche e sindromi cliniche associate con un aumento dei livelli circolanti di troponine cardiache sopra il 99° percentile della popolazione di riferimento (URL) a causa di un danno cardiaco, in accordo con il documento Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction [30].

Danno miocardico associato ad una ischemia acuta miocardica (IMA tipo 1) <i>Rottura di una placca aterosclerotica intra-coronarica con trombosi associata</i>
Danno miocardico associato ad una ischemia acuta miocardica causata da uno sbilanciamento tra apporto e domanda di ossigeno (IMA tipo 2) <i>Ridotta perfusione miocardica associata a:</i> <ul style="list-style-type: none">- Spasmo coronarico, disfunzione del microcircolo- Embolia coronarica- Dissezione di un'arteria coronarica- Aritmia a bassa frequenza- Ipotensione o shock- Insufficienza respiratoria- Anemia severa <i>Aumentata domanda di ossigeno associata a:</i> <ul style="list-style-type: none">- Tachiaritmia di lunga durata- Iperensione severa con o senza insufficienza ipertrofia ventricolare
Altre cause di danno miocardico <i>Condizioni cardiache:</i> <ul style="list-style-type: none">- Scompenso a cardiaco- Miocardite- Cardiomiopatie- Sindrome di Takotsubo- Procedura di rivascularizzazione coronarica- Altre procedure cardiache invasive- Ablazione mediante catetere- Defibrillazione cardiaca- Trauma cardiaco <i>Condizioni sistemiche:</i> <ul style="list-style-type: none">- Sepsi, malattie infettive sistemiche- Insufficienza renale cronica- Stroke, emorragia sub-aracnoidea- Embolia polmonare, ipertensione polmonare- Malattie infiltrative sistemiche, come amiloidosi e sarcoidosi- Agenti chemioterapici e droghe di abuso cardio-tossiche (cocaina)- Pazienti in condizioni critiche- Esercizio fisico strenuo (sport di endurance, maratona, ciclismo)

Association for Clinical Chemistry e della Task Force on Clinical Applications of Cardiac Biomarkers dell'IFCC, ha posto l'accento sul fatto che la popolazione di riferimento debba comprendere individui di entrambi i sessi e che un metodo "high-sensitivity" debba misurare valori di cTnI e cTnT nella maggior parte sia della popolazione femminile che maschile [36]. È ben noto, infatti, che le donne adulte presentano livelli circolanti di cTnI e cTnT mediamente inferiori rispetto agli uomini di pari età, probabilmente perché hanno una massa corporea e quindi anche una massa miocardica più piccola [10,11,15,16,32,33].

In accordo con tutte le più recenti linee guida nazionali ed internazionali [12,22,31,34-37], i metodi che misurano il 99° percentile con un CV inferiore al 20% (ma maggiore del 10%) si possono ancora utilizzare nella pratica clinica, ma non si dovrebbero definire come "high-sensitivity". Tali metodi sono definiti dalla letteratura in lingua inglese come "contemporary sensitive" [34-37]. I metodi che invece misurano il 99° percentile con un CV maggiore del 20% non dovrebbero più essere utilizzati per la diagnosi di IMA [31,34-37]. In quest'ultima categoria rientrano quasi tutti i metodi di Point of Care Testing (POCT), che possono essere utilizzati per un primo screening al letto del paziente, in ambulanza o nei centri di pronto soccorso periferici che

non dispongono di un laboratorio clinico. Questi metodi sono pertanto utilizzabili per evidenziare i pazienti ad alto rischio di IMA, per avviarli il più velocemente possibile a un reparto clinico specializzato in grado di effettuare con urgenza un intervento coronarico invasivo, come raccomandato dalle più recenti linee guida internazionali [30,31].

I più importanti parametri di sensibilità analitica riguardanti la più recente generazione dei metodi per la cTnI, resi disponibili per i laboratori clinici italiani negli anni 2015-2018, sono riportati nella tabella 2. La caratteristica principale di questi metodi è che presentano dei valori di sensibilità analitica (espressi in termini di LoD) inferiore a 10 ng/L. Altro dato essenziale è che il rapporto tra il valore del 99° percentile (suggerito dalle aziende produttrici) e il valore della concentrazione di troponina, misurata con un errore uguale al 10% (10% LoQ), è sempre ≥ 1 , come richiesto dal primo criterio della definizione di metodo ad alta sensibilità. È importante rilevare come alcuni recenti metodi per la misura della cTnI presentino valori di questo rapporto tra 4 e 6 (Tab. 2), indicando che il valore decisionale è misurato con errore molto inferiore al 10% (più precisamente tra il 4% e il 6%), come dimostrato in alcune recenti pubblicazioni [38-41]. Inoltre questi metodi

Tabella 2

Parametri analitici di alcuni dei più recenti metodi di misura della cTnI resi disponibili in Italia dopo l'anno 2015.

Metodi	LoB (ng/L)	LoD (ng/L)	LoQ 20% CV (ng/L)	LoQ 10% CV (ng/L)	Ratio*	Riferimento bibliografico
Architect	0,7	1,3	1,8	4,7	5	[38]
Access Dxl	0,6	1,3	2,1	5,3	4	[39]
ADVIA	1,0	2,2	3,5	8,4	5,6	[40]
AIA	1,1	2,1	15,0	30,9	1	[41]

*Ratio: questo valore rappresenta il rapporto tra il 99° percentile della popolazione di riferimento, suggerito dalla azienda produttrice, e il parametro LoQ 10% CV

Architect: metodo STAT Architect highly Sensitive TnI per la piattaforma Architect i1000SR (Abbott Diagnostics, Ref. B3P250).

Access Dxl: metodo Access hsTnI (IUO) per la piattaforma Dxl (REF B52699, Beckman Coulter, Inc. Brea, CA 92821 USA).

ADVIA: metodo ADVIA Centaur High-Sensitivity Troponin I (TNIH) (Ref. 10994774-5) per la piattaforma Centaur XPT (Siemens Healthineers, Milano, Italy).

AIA: metodo CLEIA (CL AIA-PACK cTnI TEST) per la piattaforma AIA-CL2400 (TOSOH BIOSCIENCE, Tessenderlo, Belgium)

per la cTnI presentano anche valori di LoD inferiori a 3 ng/L, quando valutati con protocolli sperimentali standardizzati (Tab. 2) [38-41]. Questi metodi quindi dimostrano di essere tutti in grado di soddisfare il primo criterio raccomandato dalle linee guida (cioè misura del 99° percentile con un CV \leq 10%).

Per il metodo hs-cTnI che utilizza la piattaforma Architect sono disponibili molti studi che hanno valutato la distribuzione dei valori di cTnI, misurati con questo metodo in una larga popolazione sia di soggetti adulti [32] che in età pediatrica [38]. Questi dati dimostrano che il metodo hs-cTnI Architect è in grado di misurare livelli di cTnI maggiori della LoD rispettivamente in più del 90% della popolazione adulta e in più del 85% della popolazione in età pediatrica in apparente buona salute [32,22]. Purtroppo, attualmente, vi sono pochi dati sulla distribuzione delle concentrazioni del biomarcatore misurate su larghe popolazioni di individui apparentemente sani riferentesi agli altri metodi per la cTnI, riportati nella tabella 2. Per questo motivo, non vi sono ancora sufficienti evidenze sperimentali per definire ad alta-sensibilità questi più recenti metodi per la misura della cTnI in accordo con il secondo criterio della definizione di metodi ad alta sensibilità [36,37].

Per quanto riguarda la misura della TnT, il metodo ECLIA è in commercio fin dall'anno 2011 [20]. Questo metodo presenta un valore di LoD tra 3 e 5 ng/L a seconda se è utilizzato secondo il protocollo sperimentale STAT, che ha un tempo di incubazione più rapido, o non-STAT, con un tempo di incubazione un po' più lungo che però presenta il vantaggio di una migliore sensibilità analitica (LoD uguale a 3 ng/L invece di 5 ng/L). Il 99° percentile URL di 14 ng/L, suggerito dalla azienda produttrice, è misurato con un errore leggermente inferiore al valore del 10% raccomandato dalle linee guida (in media con un CV= 8%) [20,21,32,34,35,46]. I risultati riguardanti la distribuzione dei valori di cTnT in una popolazione di sole donne sono contraddittori, alcuni studi indicano che il metodo è in grado di misurare la maggior parte di individui di sesso femminile con valori al di sopra della LoD, mentre altri studi non confermano questo dato [20,21,32,34,35,46]. Ulteriori studi sono quindi necessari per confermare che il metodo ECLIA per la misura della cTnT è in grado di soddisfare entrambi i criteri per esser definito un metodo ad alta sensibilità (*high-sensitivity*).

I METODI AD ALTA SENSIBILITÀ PER LA DETERMINAZIONE DELLE CTNI E CTNT: RILEVANZA FISIOPATOLOGICA E CLINICA

È importante sottolineare il grande sforzo che le aziende e gli esperti della medicina di laboratorio hanno profuso in questi ultimi anni per mettere a disposizione di tutti i laboratori clinici dei metodi per la misura delle cTnI e cTnT che fossero in grado di soddisfare pienamente i requisiti raccomandati dalle linee guida. Infatti, considerando il dato sperimentale che la cTnI è presente nel tessuto miocardico umano in concentrazione di circa 70 mg/g di tessuto e la cTnT di circa 100-240 mg/g, si può teoricamente calcolare che i metodi a più alta sensibilità (*high-sensitivity*) sono in grado di misurare una quantità di proteina presente nei miocardiociti corrispondente a poche decine di mg di tessuto miocardico, quindi ben al di sotto della sensibilità dei metodi di *imaging* cardiaco più sofisticati e costosi [11,15,16,33]. In particolare, il valore del 99° percentile URL per i metodi della cTnI di più recente introduzione nel mercato varia da circa 15 a 50 ng/L (Tab. 3). Tale concentrazione corrisponde alla liberazione in circolo del contenuto di troponina presente in circa 40 mg di miocardio, ben al di sotto della risoluzione spaziale anche delle più recenti tecniche di *imaging* cardiaco [24-26].

Da un punto di vista fisiopatologico, rimane ancora aperto il dibattito sul perché i soggetti sani presentino livelli misurabili di cTnI e cTnT in circolo e perché si rilevino aumenti dei livelli del biomarcatore in soggetti senza apparente malattia cardiaca (come atleti in corso di gare di *endurance*), che non dovrebbero necessariamente causare la morte (necrosi) dei cardiomiociti (danno reversibile) [10,11,15,16,32,33]. Qualunque sia il meccanismo fisiopatologico responsabile del rilascio in circolo del biomarcatore le più recenti acquisizioni sull'impiego dei metodi di dosaggio ad alta sensibilità supportano l'ipotesi che la misura dei livelli circolanti di cTnI e cTnT potrebbe fornire importanti informazioni riguardanti la natura del confine tra "rimodellamento" fisiologico e patologico del miocardio, e quindi contribuire all'allargamento delle conoscenze sulla fisiopatologia cardiaca, come anche aprire nuovi approcci per sperimentare una cura migliore dei pazienti con malattie cardiovascolari [10,11,15,16,32,33].

Tabella 3

Intervallo di riferimento (99° URL, ng/L) di tre metodi per la misura della cTnI.

	Metodo ARCHITECT	Metodo Access hs cTnI	Metodo ADVIA Centaur hs
Popolazione generale	26,2 ng/L	17,5 (12,6-20,7) ng/L	47,34 (36,39-64,27) ng/L
Donne	15,6 ng/L	11,6 (8,4-18,3) ng/L	36,99 (30,22-72,63) ng/L
Uomini	34,2 ng/L	19,8 (14,0-42,9) ng/L	57,27 (38,58-90,15) ng/L
Numero di soggetti arruolati	1531	1098	2010

I valori dell'intervallo di riferimento, riportati in tabella, sono quelli suggeriti dalle aziende produttrici. Tra parentesi sono riportati i limiti di confidenza al 95%.

Dal punto di vista clinico, il più grande vantaggio di utilizzare metodi ad alta sensibilità è quello di ridurre il tempo della diagnosi e quindi del *rule-in* e *rule-out* al Pronto Soccorso dei pazienti con sospetto di SCA [12,22,31,34-37]. Nel corso di questi ultimi 15 anni il tempo medio per la diagnosi di IMA è sceso da 12-24 ore a 3 ore o anche meno [10,11,15,16,33]. In alcuni casi è stato addirittura suggerito un *rule-out* rapido all'ammissione al Pronto Soccorso con metodi ad alta sensibilità in pazienti con una concentrazione di cTnI o cTnT minore della LoD, che presentano anche un basso score per rischio cardiaco e dolore toracico comparso da alcune ore [31,42-44]. Questi risultati hanno comportato un risparmio non solo di tempo, di risorse umane e di fondi, ma anche un notevole beneficio per i pazienti.

D'altra parte l'utilizzo di metodi ad alta sensibilità comporta anche degli svantaggi nella pratica clinica. Come era da attendersi in base ai principi teorici della *Evidence-Based Laboratory Medicine* (EBLM), un aumento della sensibilità analitica e clinica si accompagna sempre ad una diminuzione della specificità clinica. Solo una frazione (circa un terzo) dei pazienti che si presentano al Pronto Soccorso con un valore di troponina, misurato con metodi ad alta sensibilità, al di sopra del 99° percentile presenta di fatto un IMA [23,30,45]. Come raccomandato anche dalle più recenti linee guida [36], i nuovi metodi ad alta sensibilità per le troponine cardiache richiedono da parte degli esperti di medicina di laboratorio e soprattutto dei clinici una attenta riflessione riguardo al quesito diagnostico per cui il test viene richiesto. Inoltre, se da una parte questi metodi possono fornire informazioni diagnostiche e prognostiche essenziali, dall'altra necessitano di essere interpretati alla luce del quadro clinico del paziente.

Le più recenti linee guida internazionali prendono in considerazione soprattutto i metodi ad alta sensibilità analitica (*high-sensitivity*) [30,31], mentre non tutti i metodi utilizzati attualmente in Italia lo sono. Gli studi clinici sono in genere effettuati in centri ad elevata specializzazione e la selezione dei pazienti è spesso differente tra uno studio e l'altro. I risultati ottenuti in questi studi non sono quindi confrontabili con la reale situazione del nostro paese, per cui occorre una stretta collaborazione tra clinici ed esperti di laboratorio per validare livelli decisionali e processi diagnostici più efficienti per ogni istituzione. Infine, il passaggio a metodi ad alta sensibilità per le troponine cardiache nella diagnosi differenziale delle sindromi coronariche acute potrebbe richiedere in alcuni contesti una

profonda revisione, non solo dei percorsi diagnostici e terapeutici dei pazienti, ma anche una differente organizzazione del Pronto Soccorso e dei reparti clinici.

POTENZIALI LIMITI DELLA DEFINIZIONE DI DANNO MIOCARDICO UTILIZZANDO IL 99° PERCENTILE COME VALORE DECISIONALE

Il recente documento *Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction* stabilisce che la presenza di un danno cardiaco (*myocardial injury*) risulta documentata in un paziente che presenta almeno un valore al di sopra del 99° percentile della popolazione di riferimento del metodo utilizzato per la misura del biomarcatore [30]. È importante sottolineare come questa definizione presenti non solo un notevole impatto clinico, ma anche assuma una valenza anatomo-patologica in quanto stabilisce la presenza di una distruzione (danno) di una parte più o meno estesa di tessuto miocardico determinata per mezzo di un test di laboratorio (misura della cTnI o cTnT).

L'utilizzo di un limite di riferimento unico come valore decisionale (come il 99° percentile nel caso del danno cardiaco) può senz'altro semplificare il compito diagnostico del clinico. Tuttavia, questi indici spesso sono utilizzati senza considerare le possibili limitazioni che la loro adozione comporta nella pratica clinica. Discuteremo, quindi, alcuni aspetti analitici e fisiopatologici dell'utilizzo del 99° percentile delle troponine cardiache per la valutazione di un danno cardiaco non solo acuto (come nella SCA), ma anche (e soprattutto) cronico (come nello scompenso cardiaco).

Solo utilizzando metodi ad alta sensibilità (*high-sensitivity*) è possibile determinare con accuratezza il valore del 99° percentile di una popolazione di riferimento, costituita da adulti sani, soprattutto se questa è costituita da sole donne [32,46]. Come esempio, in figura 3 è riportata la distribuzione dei valori di cTnI, misurata con il metodo Architect, di una popolazione costituita da individui adulti sani, di entrambi i sessi, arruolati da differenti regioni italiane (625 individui con rapporto F/M=1 e con un intervallo di età di 18-86 anni). La distribuzione dei valori di cTnI approssima una distribuzione log-normale (Fig. 3A). La sensibilità analitica (LoD) calcolata per il metodo Architect è 1,3 ng/L (Tab. 2), il che consente di misurare la cTnI, con valori maggiori della LoD, rispettivamente, in una percentuale maggiore del 90% di maschi e del 50% di femmine, come richiesto dalle più recenti linee guida per

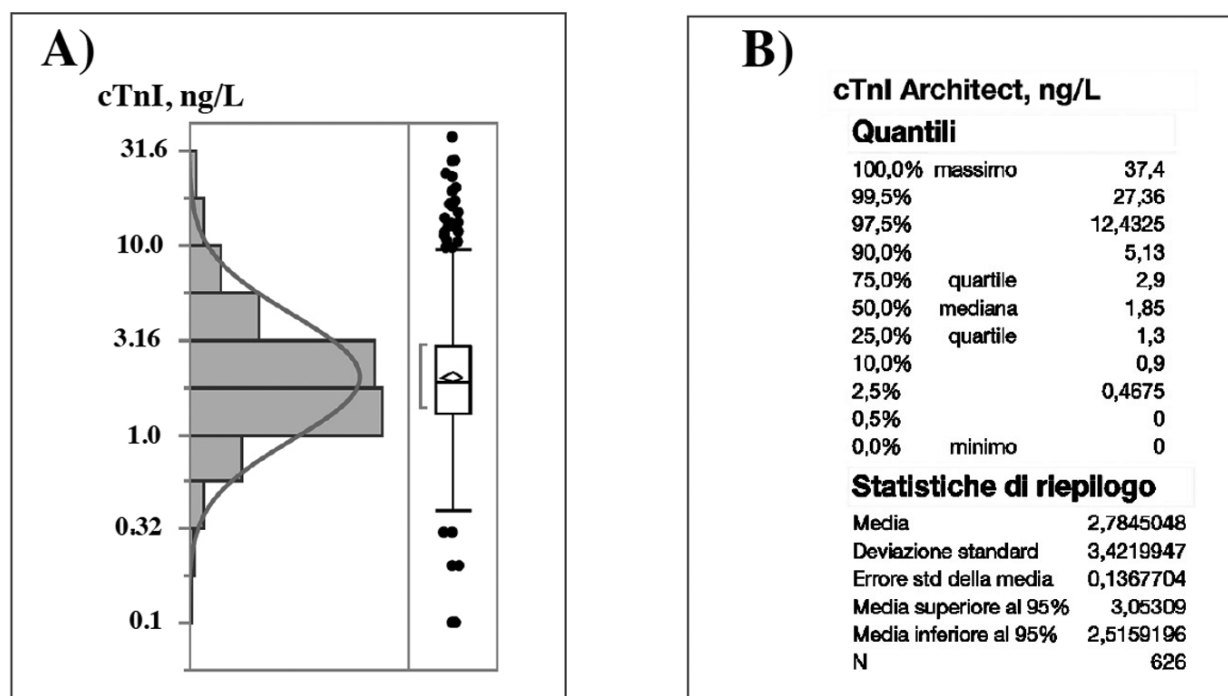


Figura 3

Distribuzione dei valori di cTnI misurati con il metodo immunometrico che utilizza la piattaforma Architect in una popolazione Italiana di 626 soggetti adulti sani (intervallo di età 18-86 anni, rapporto maschi/femmine = 1).

Parte A – La figura rappresenta la distribuzione log-normale di valori misurati di cTnI (ng/L). La scala dei valori di cTnI è logaritmica in base 10.

Parte B – Quantili (espressi come percento) della distribuzione dei valori di cTnI (ng/L) e parametri della distribuzione.

un metodo ad alta sensibilità [36]. La distribuzione log-normale della cTnI comporta che il valore del 99° percentile (circa 27 ng/L) risulta circa 15 volte più elevato del valore mediano del biomarcatore (circa 2 ng/L) (Fig. 3B). Dal punto di vista fisiopatologico si può, quindi, ipotizzare che un individuo che presenta una concentrazione plasmatica di cTnI intorno alla mediana della distribuzione, affinché il suo valore di cTnI possa superare il valore del 99° percentile (27 ng/L), è necessario che si abbia la distruzione di un numero di miocardiociti più elevato di circa 15 volte del valore di concentrazione del biomarcatore che si riscontra mediamente nella popolazione sana (circa 2 ng/L).

Questa osservazione fisiopatologica richiede ulteriori riflessioni sull'utilizzo della misura delle troponine cardiache quando sono misurate con metodi ad alta sensibilità, soprattutto in pazienti con malattie cardiache croniche in cui si sospetta una progressione verso lo scompenso cardiaco a causa di un rimodellamento miocardico patologico. La dimostrazione di un aumento progressivo delle concentrazioni di cTnI con un metodo ad alta sensibilità, anche solo di pochi ng/L (ad esempio 3-5 ng/L) potrebbe indicare la presenza di un rimodellamento patologico, anche quando il valore del biomarcatore rimane al di sotto della soglia critica rappresentata dal valore del 99° percentile. Studi recenti hanno, infatti, dimostrato che il rischio cardiovascolare aumenta già al di sotto dei valori del 99° percentile sia per la cTnI che per la cTnT [47-51]. In particolare, il recente studio HUNT [52] riporta che in una popolazione generale (una coorte di 9005 individui studiati per 16 anni) il terzile con più elevato rischio cardiovascolare è caratterizzato da valori di cTnI, misurata con il metodo Architect, >12 ng/L per la popolazione maschile (99°

percentile = 34,2 ng/L, cioè circa 3 volte più elevato) e >10 ng/L per la popolazione femminile (99° percentile = 15,6 ng/L, circa 1,6 volte più elevato), rispettivamente.

Un altro recente studio, utilizzando sempre il metodo Architect, ha dimostrato che variabilità giornaliera intra-individuale della cTnI, valutata sia in soggetti sani che pazienti con insufficienza renale cronica sottoposti a dialisi, è simile, essendo mediamente di circa l'8%, mentre la variabilità inter-individuale è molto più elevata essendo del 40-60% [53]. Questa relativa scarsa variabilità intra-individuale giornaliera è ben in accordo con l'ipotesi che i valori circolanti delle troponine cardiache rappresentino un indice del rinnovamento fisiologico negli individui adulti sani.

Il rilievo dell'aumento del rischio cardiovascolare per valori di cTnI e cTnT ben al di sotto del valore soglia rappresentato dal 99° percentile, insieme al dato di una variabilità intra-individuale molto inferiore a quella inter-individuale (8% vs 40-60%) fa sorgere il dubbio che per la valutazione del rischio cardiovascolare nella popolazione generale come anche negli individui a più alto rischio non sia utile utilizzare come valore decisionale il 99° percentile della distribuzione del biomarcatore calcolato nella totalità della popolazione adulta in apparente buona salute.

CONCLUSIONI

Il recente documento *Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction* ha stabilito che la misura della cTnI e cTnT è indispensabile per la valutazione della presenza del danno cardiaco (*myocardial injury*) [30]. Infatti, questo documento stabilisce che la presenza di un danno cardiaco risulta documentata in un paziente che presenta almeno un valore al di sopra del 99° percentile della popolazione di

riferimento del metodo utilizzato per la misura del biomcatore [30]. Quindi, questa definizione considera il test di laboratorio della troponina cardiaca come preliminare e preminente rispetto all'esame ECG (ed ecocardiografico) in una paziente con sospetto di SCA (Fig. 2). Inoltre, l'importanza clinica di questa definizione travalica lo stesso campo delle sindromi coronariche acute per allargare il suo raggio di azione anche a tutto il piú ampio spettro delle malattie cardiache in cui vi può essere un danno miocardico (Tab. 1). Il test di laboratorio della misura della cTnI e cTnT acquisisce, quindi, una valenza di primissimo piano in tutta la clinica cardiologica, sia nelle malattie cardiache acute che croniche.

La troponina cardiaca deve essere considerata come una variabile che si modifica nel tempo. Considerati sia il costo elevato che la minore sensibilità rispetto al test di laboratorio dell'*imaging* cardiaco, potrebbe essere clinicamente utile ed appropriata una valutazione seriata nei pazienti ad alto rischio per scompenso cardiaco con la misura delle troponine cardiache con metodi ad alta sensibilità. Infatti, un aumento progressivo dei valori del biomcatore potrebbe indicare la presenza di un rimodellamento patologico miocardico. D'altro lato, la diminuzione dei valori delle troponine cardiache, durante appropriato trattamento terapeutico, potrebbe suggerire un miglioramento dell'impegno miocardico con una diminuzione del rischio cardiovascolare.

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

1. Nomenclature and criteria for diagnosis of ischemic heart disease. Report of the Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization Task Force on Standardization of Clinical Nomenclature. *Circulation* 1979;59:607-9
2. **Wu AHB, McCord RG.** New biochemical markers for heart disease. In: Wu AHB, editor. *Cardiac markers*, Humana Press: Totowa 1998; 281-94
3. **Wu AHB.** Introduction to coronary artery disease (CAD) and biochemical markers. In: Wu AHB, (ed) *Cardiac markers*, Humana Press: Totowa 1998; 3-20.
4. **Penttila I, Penttila K, Rantanen T.** Laboratory diagnosis of patients with acute chest pain. *Clin Chem Lab Med* 2000; 28:187-97
5. **Plebani M.** Biochemical markers of cardiac damage: from efficiency to effectiveness. *Clin Chim Acta* 2001; 311:3-7
6. **Galvani M, Ferrini D, Ghezzi F, et al.** Cardiac markers and risk stratification: an integrated approach. *Clin Chim Acta* 2001; 311:9-17
7. **Blomkalns AL, Gibler WB.** Markers and the initial triage and treatment of patients with chest pain. *Cariovasc Toxicol* 2001; 1:111-5
8. **Cappelletti P, Rubin D.** Linee guida nell'utilizzo dei marcatori di lesione mioctdica. *Riv Med Lab – JLM* 2001; 2:88-98
9. **Vittorini S, Clerico A.** Cardiovascular biomarkers: increasing impact of laboratory medicine in cardiology practice. *Clin Chem Lab Med* 2008; 46: 748-63
10. **Giannoni A, Giovannini S, Clerico A.** Measurement of circulating concentrations of cardiac troponin I and T in healthy subjects: a tool for monitoring myocardial tissue renewal? *Clin Chem Lab Med* 2009;47:1167-77
11. **Marjot J, Kaier TE, Martin ED, et al.** Quantifying the release of biomarkers of myocardial necrosis from cardiac myocytes and intact myocardium. *Clin Chem* 2017;63:990-6
12. **Casagrande I, Cavazza M, Clerico A, et al.** Proposal for the use in emergency departments of cardiac troponins measured with the latest generation methods in patients with suspected acute coronary syndrome without persistent ST-segment elevation. *Clin Chem Lab Med* 2013; 51:1727-37
13. **Alpert JS, Thygesen K, Antman E, et al.** Myocardial Infarction Redefined A Consensus Document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the Redefinition of Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36:959-69
14. **Panteghini M, Pagani F, Yeo KT, et al.** Committee on standardization of markers of cardiac damage of the IFCC. Evaluation of imprecision for cardiac troponin assays at low-range concentrations. *Clin Chem.* 2004;50: 327-32
15. **Clerico A, Giannoni A, Prontera T, et al.** High-sensitivity troponin: a new toll for pathophysiological investigation and clinical practice. *Adv Clin Chem* 2009; 49: 1-30
16. **Giannoni A, Giovannini S, Clerico A.** Measurement of circulating concentrations of cardiac troponin I and T in healthy subjects: a tool for monitoring myocardial tissue renewal? *Clin Chem Lab Med* 2009; 47: 1167-77
17. **Apple FS.** A new season for cardiac troponin assays: it's time to keep a scorecard. *Clin Chem* 2009; 55: 1303-6
18. **Prontera C, Fortunato A, Storti S, et al.** Evaluation of analytical performance of the Siemens ADVIA TnI Ultra Immunoassay. *Clin Chem* 2007;53:1722-3
19. **Prontera C, Fortunato A, Storti S, et al.** Evaluation of analytical performance of Advia® TnI ultra immunoassay and comparison with Access® AccuTnITM method. *Immuno-analyse Biologie Spécialisée* 2008; 23:311-8
20. **Saenger AK, Beyrau R, Braun S, et al.** Multicentre analytical evaluation of a high-sensitive troponin T assay. *Clin Chim Acta* 2011; 412:748-54
21. **Franzini M, Lorenzoni V, Masotti S, et al.** The calculation of the cardiac troponin T 99th percentile of the reference population is affected by age, gender, and population selection: A multicenter study in Italy. *Clin Chim Acta* 2015;438:376-81
22. **Thygesen K, Mair J, Giannitsis E, et al.** How to use high-sensitivity cardiac troponins in acute cardiac care. *Eur Heart J* 2012;33, 2252–7
23. **Mueller M, Vafaie M, Biener M, et al.** Cardiac troponin T: from diagnosis of myocardial infarction to cardiovascular risk prediction. *Circ J* 2013; 77:1653-61

24. **El Aidi H, Adams A, Moons KG, et al.** Cardiac magnetic resonance imaging findings and the risk of cardiovascular events in patients with recent myocardial infarction or suspected or known coronary artery disease: a systematic review of prognostic studies. *J Am Coll Cardiol* 2014;63:1031-45
25. **Jan MF, Tajik AJ.** Modern imaging techniques in cardiomyopathies. *Circ Res* 2017;121:874-91
26. **Wong C, Chen S, Iyngkaran P.** Cardiac imaging in heart failure with comorbidities. *Curr Cardiol Rev* 2017;13:63-75
27. **Thygesen K, Alpert JSA, White HD** on behalf of the joint ESC/ACCF/AHA/WHF task force for the definition of myocardial infarction. Universal definition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50: 2173-95
28. **Mendis S, Thygesen K, Kuulasmaa K, et al.** Writing group on behalf of the participating experts of the WHO consultation for revision of WHO definition of myocardial infarction. World Health Organization definition of myocardial infarction: 2008-09 revision. *Int J Epidemiol* 2011;40:139-146
29. **Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, et al.** Third universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2012;33:2551-67
30. **Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, et al.** Fourth universal definition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2018;72:2231-64
31. **Roffi M, Patrono C, Collet JP, et al.** 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2016;37:267-315
32. **Clerico A, Zaninotto M, Ripoli A, et al.** The 99th percentile of reference population for cTnI and cTnT assay: methodology, pathophysiology and clinical implications. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:1634-51
33. **Mair J, Lindahl B, Hammarsten O, et al.** How is cardiac troponin released from injured myocardium? *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care* 2018;7:553-60
34. **Apple FS, Collinson PO;** IFCC Task Force on Clinical Applications of Cardiac Biomarkers. Analytical characteristics of high-sensitivity cardiac troponin assays. *Clin Chem* 2012;58:54-61
35. **Apple FS, Jaffe AS, Collinson P, et al.** on behalf of the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) Task Force on Clinical Applications of Cardiac Biomarkers. IFCC educational materials on selected analytical and clinical applications of high sensitivity cardiac troponin assays. *Clin Biochem* 2015;48:201-3
36. **Wu AHB, Christenson RH, Greene DN, et al.** Clinical laboratory practice recommendations for the use of cardiac troponin in acute coronary syndrome: Expert opinion from the Academy of the American Association for Clinical Chemistry and the Task Force on Clinical Applications of Cardiac Bio-Markers of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chem* 2018;64:645-55
37. **Clerico A, Zaninotto M, Graziani MS, et al.** Specifiche di qualità, terminologia e definizione dei metodi di misura delle troponine cardiache I e T. *Biochimica Clinica* 2018; in press
38. **Caselli C, Cangemi G, Masotti S, et al.** Plasma cardiac troponin I concentrations in healthy neonates, children and adolescents measured with a highly sensitive immunoassay method: Highly sensitive troponin I in pediatric age. *Clin Chim Acta* 2016;458:68-71
39. **Masotti S, Prontera C, Musetti V, et al.** Evaluation of analytical performance of a new high-sensitivity immunoassay for cardiac troponin I. *Clin Chem Lab Med* 2018;56:492-501
40. **Masotti S, Musetti V, Prontera C, et al.** Evaluation of analytical performance of a new ADVIA immunoassay using the Centaur XPT platform system for the measurement of cardiac troponin I. *Clin Chem LabMed* 2018;56:e229-31
41. **Masotti S, Musetti V, Concetta P, et al.** Evaluation of analytical performance of a chemiluminescence enzyme immunoassay (CLEIA) for cTnI using the automated AIA-CL2400 platform. *Clin Chem Lab Med* 2018; published online <https://doi.org/10.1515/cclm-2017-110>.
42. **Body R, Carley S, McDowell G, et al.** Rapid exclusion of acute myocardial infarction in patients with undetectable troponin using a high-sensitivity assay. *J Am Coll Cardiol* 2011;58:1332-9
43. **Rubini Giménez M, Hoeller R, Reichlin T, et al.** Rapid rule-out of acute myocardial infarction using undetectable levels of high-sensitivity cardiac troponin. *Int J Cardiol* 2013;3896-901
44. **Greenslade J, Cho E, Van Hise C, et al.** Evaluating rapid rule-out of acute myocardial infarction using a high-sensitivity cardiac troponin I assay at presentation. *Clin Chem* 2018;64:820-9
45. **Giannitsis E, Katus HA.** Cardiac troponin levels elevation not related to acute coronary syndromes. *Nat Rev Cardiol* 2013;10:623-34
46. **Sandoval Y, Apple FS.** The global need to define normality: 99th percentile value of cardiac troponin. *Clin Chem* 2014;60:455-62
47. **de Lemos JA1, Drazner MH, Omland T, et al.** Association of troponin T detected with a highly sensitive assay and cardiac structure and mortality risk in the general population. *JAMA* 2010;304:2503-12
48. **Wang TJ, Wollert KC, Larson MG, et al.** Prognostic utility of novel biomarkers of cardiovascular stress: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2012;126:1596-604
49. **Zeller T, Hughes M, Tuovinen T, et al.** BiomarCaRE: rationale and design of the European BiomarCaRE project including 300,000 participants from 13 European countries. *Eur J Epidemiol* 2014;29:777-90
50. **Everett BM, Zeller T, Glynn RJ, et al.** High-sensitivity cardiac troponin I and B-type natriuretic peptide as predictors of vascular events in primary prevention: impact of statin therapy. *Circulation* 2015;131:1851-60
51. **Blankenberg S, Salomaa V, Makarova N, et al.** Troponin I and cardiovascular risk prediction in the

Altri contributi

general population: the BiomarCaRE consortium. Eur Heart J 2016;37:2428-37

52. **Sigurdardottir FD, Lynbakken MN, Holmen OL, et al.** Relative prognostic value of cardiac troponin I and C-reactive protein in the general population (from the North-Trøndelag Health [HUNT] Study. Am J Cardiol 2018;121:949-55
53. **Van der Linden N, Hilderink JM, Cornelis T et al.** Twenty-four-hour biological variation profiles of cardiac troponin I in individuals with or without chronic kidney disease. Clin Chem 2017;63:655-9

Per corrispondenza:

Prof. Aldo Clerico
Fondazione CNR – Regione Toscana “G. Monasterio”
e Scuola Superiore Sant’Anna
Via Trieste, 41 - 56126 - Pisa
Tel.: 349 3434628 Fax: 0585 483501
e-mail: clerico@ftgm.it